

## **Szakmai Zárójelentés (OTKA T046417):**

### **A szívizom stressz-adaptációja: a peroxinitrit, a mátrix metalloproteinázok, és a hiperlipidémia szerepe**

#### **Összefoglalás:**

Az iszkémiás szívbetegség, mely legtöbbször a hiperlipidémia talaján fejlődik ki, a szívfunkció csökkenéséhez, szívritmuszavarok és infarktus kialakulásához vezet, melyek a leggyakoribb halálokok közé tartoznak a civilizált társadalmakban, Magyarországon pedig kiemelt népegészségügyi probléma. A 4 éves pályázati project során a szívizom iszkémiának és az iszkémiás stressz adaptációs képességének (ún. iszkémiás prékondicionálás és poszt-kondicionálás) celluláris mechanizmusait vizsgáltuk állatkísérletekben, különösképpen a nitrogén monoxid, szuperoxid és peroxinitrit, illetve ennek egyik celluláris targetjének, az MMP-2-nek a szerepét. A számos új eredményünk közül csupán néhányat emelnénk ki: Kimutattuk, hogy hiperlipidemiában a szívben a peroxinitrit képződés fokozódik és ezáltal a káros metalloproteináz-2 aktivitása a szívben fokozódik, ami különösen hiperlipidemiában jelentős, és ezt a folyamatot a prékondicionálás gátolja. DNA-chip vizsgálattal feltérképeztük hiperlipidémia hatására a génkifejeződés változásait a szívizomban. Kimutattuk, hogy az alacsony mértékű peroxinitrit képződés a stressz adaptáció kiváltásában igen fontos szerepet tölt be, hiszen olyan mechanizmusokat aktivál, melyek az iszkémiás stressz során túlzott mértékű peroxinitrit képződést, és MMP aktiválást csökkenti. Az irodalomban elsőként kimutattuk, hogy nemspecifikus MMP gátlókkal, pl doxycyclin és ilomastat, az infarktus területe csökkenthető még hiperlipidemiás állatban is. A hiperlipidémia és a nitroztatív stressz tanulmányozására genetikai állat modelleket is bevezettünk, az apoB100 transzgenetikus egeret normál és hiperlipidemiás diétával, és kimutattuk, hogy a oxidatív/nitroztatív stressz okozója a hiperkoleszterinémia, és nem a hipertrigliceridémia. Kimutattuk továbbá, hogy a fiziológiás peroxinitrit szint szabályozása, melyben a szívizom kapszaicin-érzékeny neuronjai vesznek részt, a normális szívizom relaxációt tartja fent. A project futamideje alatt az adott témában összesen 16 nemzetközi cikket, több mint 70 impakt faktor értékben közöltünk.

#### ***Első pályázati év (2004) feladatai szerződés szerint:***

*Vizsgáltuk, hogy mi a hatásmechanizmusa a szívizom iszkémia/reperfúzió során felszabaduló peroxinitritnek a szívizom iszkémiás károsodásában, és ebben részt vesz-e matrix metalloproteináz enzimek kóros aktiválódása. Vizsgáltuk továbbá, hogy a biokémiai mechanizmus szerepel-e a iszkémiás stressz-adaptáció kialakulásában.*

#### **Várható eredmények szerződés szerint:**

Bizonyítjuk, hogy a prékondicionáló iszkémia hatására felszabaduló peroxinitrit aktiválja az MMP-eket és ez beindítja a prékondicionálás mechanizmusát,

ami a teszt iszkémia során pedig a peroxinitrit szint csökkenéséhez, és így az MMPk csökkent aktiválódásához és végső soron kardioprotekcióhoz vezet.

#### Elért eredmények:

Munkánk során a szívizom iszkémiás adaptációs képességének (ún. iszkémiás prékondicionálás) celluláris mechanizmusait vizsgáltuk állatkísérletekben, különösképpen a nitrogén monoxid, szuperoxid és peroxinitrit, illetve ennek egyik celluláris targetjének, az MMP-2-nek a szerepét. A számos új eredményünk közül csupán néhányat emelnénk ki. Kimutattuk, hogy hiperlipidemiában a szívben a peroxinitrit képződés fokozódik és ezáltal a káros metalloproteináz-2 aktivitása a szívben fokozódik, ami különösen hiperlipidemiában jelentős, és ezt a folyamatot a prékondicionálás gátolja. DNA-chip vizsgálattal feltérképeztük hiperlipidémia hatására a génkifejeződés változásait a szívizomban, és mellékprojektként az agyban is. Kísérleteinket human vizsgálatokra is kiterjesztettük, és humán vizsgálataink első szakaszát befejeztük, amiben kimutattuk, hogy a PTCA kezelés alatt kifejlődő prékondicionálás hiperkoleszterinemiás betegekben nem mutatható ki.

Munkánk eredményeként *3 nemzetközi cikket, több mint 9 impakt faktor* értékben közöltünk a témában. Az előadáskivonatokat nem tartjuk számon.

#### ***Második pályázati év (2005) feladatai szerződés szerint:***

*Vizsgáltuk, hogy mi a biokémiai háttere az iszkémiás tolerancia károsodásának hyperkoleszterinemiában, illetve hogy mi a szerepe ebben a peroxinitritnek és a mátrix metalloproteinázoknak?*

#### Várható eredmény szerződés szerint:

Bizonyítjuk, hogy a hiperlipidémia kórosan magas peroxinitrit termelődést eredményez a megnövekedett szuperoxid képződés miatt, és ez a MMP-k kóros aktiválódásához vezet, ami végsősoron az iszkémiás tolerancia csökkenését eredményezi.

#### Elért eredmények:

Ebben az évben számos új eredményünk közül csupán néhányat emelnénk ki: Kimutattuk, hogy a hiperlipidemiás szívben a prékondicionálás infarktus területet csökkentő hatása csökkent és ennek hátterében az áll, hogy az adaptáció során az MMP2-aktivitás endogén gátlása károsodott. Az irodalomban elsőként kimutattuk, hogy nemspecifikus MMP gátlókkal, pl doxycyclin és ilomastat, az infarktus területe csökkenthető még hiperlipidemiás állatban is. A szívben a capsaicin-érzékeny érző neuronok szerepét vizsgálva számos úttörő megállapítást tettünk, így pl a megváltozott nitrogén monoxid metabolizmust és a TRPV1 receptor mRNS-ének megjelenését. Vizsgáltuk, hogy 3-nitropropionsavval, ami a citrátkört gátolja, létrehozható-e a kémiai prékondicionálás. Megállapítottuk, hogy a kémiai prékondicionálás létrehozható, jelenleg ennek mechanizmusát vizsgáljuk.

Munkánk eredményeként *4 nemzetközi cikket, több mint 20 impakt faktor* értékben közöltünk a témában ebben az évben. Előadáskivonatokat nem tartjuk számon.

### ***Harmadik pályázati év (2006) feladatai szerződés szerint:***

*Vizsgáltuk, hogy a peroxinitrit képződésre és lebontásra ható célzott gyógyszeres beavatkozással helyre állítható-e, illetve növelhető-e a szívizom sztrezzadaptációs képessége egészséges illetve hiperlipidémiás állapotokban.*

#### Várható eredmény szerződés szerint:

Megállapíthatjuk, hogy a peroxinitrit szintet csökkentő gyógyszerrel fokozható-e a szívizom iszkémias adaptációja különösképpen hiperlipidémiában.

#### Elért eredmények:

A számos új eredményünk közül csupán néhányat emelnénk ki: Kimutattuk, hogy az alacsony mértékű peroxinitrit képződés a stressz adaptáció kiváltásában igen fontos szerepet tölt be, hiszen olyan mechanizmusokat aktivál, melyek az iszkémiás stressz során túlzott mértékű peroxinitrit képződést, és MMP aktiválást csökkenti. Ezt a mechanizmus nemcsak iszkémiás, hanem kémiai prekondicionálás során is kimutattuk 3-nitropropionsavval, ami a citrátkör gátlásával idézi elő a stresszt. A peroxinitrit és a kardiovaszkuláris rendszerben az antioxidáns C-vitamin szerepéről (az endotélsejtek aktívan raktározzák) a NO-peroxinitrit szignál szabályozásában összefoglaló közleményekben is publikáltuk. A hiperlipidémia és a nitrozatív stressz tanulmányozására genetikai állat modelleket is bevezettünk, az apoB100 transzgenetikus egeret normál és hiperlipidémiás diétával. Ebben a modellben tanulmányoztuk a peroxinitrit-MMP szignál traszdukciós utat a szívben, míg mellékprojektként az agyi elváltozásokat (APP anyagcserét) is tanulmányoztuk kollaborációban. Külföldi együttműködésben pedig a koronária szklerózis következtében kialakuló szívizom iszkémia mérséklésére alkalmazott sztentelés során keletkező gyulladásos és oxidatív stressz markerek megjelenését vizsgáltuk.

Munkánk eredményeként 5 nemzetközi cikket, több mint 18 impakt faktor értékben közzeltünk a témában ebben az évben. Előadáskivonatokat nem tartjuk számon.

### ***Negyedik pályázati év (2007) feladatai szerződés szerint:***

*Vizsgáltuk, hogy a mátrix metalloproteináz-2 aktivitására ható célzott gyógyszeres beavatkozással helyreállítható-e, illetve növelhető-e a szívizom sztrezzadaptációs képessége egészséges illetve hiperlipidémiás állapotokban?*

#### Várható eredmény szerződés szerint:

Megállapíthatjuk, hogy az MMP-2 aktivitást csökkentő gyógyszerrel fokozható-e a szívizom iszkémias adaptációja különösképpen hiperlipidémiában.

#### Elért eredmények:

Az erre az évre tervezett várható eredményt, már a pályázat második évében szerencsésen sikerült elérni (ld fentebb), ezért ebben az évben további hiperlipidémia modelleket vizsgáltunk. Humán ApoB-100 transzgén egerekben is bizonyítottunk,

hogy hasonlóan a magas koleszterin diétával előidézett hiperlipidémiában patkányban a humán hyperlipidémiát jobban modellező transzgén egérben is megfigyeltük melyben koleszterindús diétával a hiperkoleszterinémiát és hipertrigliceridémiát is elkülönülten lehet tanulmányozni, hogy a szívfunkciók romlásáért és az oxidatív/nitrozatív stresszért a hiperkoleszterinémia a felelős a szívben. Az irodalomban elsőként megfigyeltük továbbá, hogy a szívben lévő kapszaicin-szenzitív idegrostok szabályozzák a szívizom fiziológiás peroxinitrit termelését, és ezáltal a szívizom relaxáció képességét befolyásolni képesek a szarkoplazmás retikulum kalcium ATP-áz enzim S-nitrozilációján keresztül. Az MMP gátlás kardioprotektív hatását is tovább tanulmányoztuk, fejlesztés alatt álló molekulák vizsgálatával, mely eredmények nem publikusak. Az MMP gátlók fejlesztéséről és a szívizom stressz adaptációjáról kutatási eredményeink alapján összefoglaló közleményeket is publikáltunk.

Munkánk eredményeként 4 *nemzetközi cikket, több mint 25 impakt faktor értékben* közöltünk a témában ebben az évben. Előadáskivonatokat nem tartjuk számon.

#### **Összefoglaló tudományos teljesítmény a project futamideje alatt:**

A teljes 4 éves project eredményeként a projecthez kapcsolódó témában összesen 16 *nemzetközi cikket, több mint 70 impakt faktor értékben* közöltünk, mely különösen a projectre fordítható összeget figyelembe véve, igen jó teljesítménynek értékelünk. A nemzetközi cikkek mellett az adott témában évente 4-6 hazai és nemzetközi prezentációval szerepelt kutatócsoportunk (az előadáskivonatokat részletesen nem tartjuk számon).